

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.23.007

文章编号: 1005-8982(2017)23-0038-05

临床研究·论著

DAT 和 D₂R 在垂体腺瘤组织中的表达及其意义

任志文¹, 谢岩², 赵冬¹, 刘祺¹, 王洋¹, 许健¹, 王业忠¹

(新疆石河子大学医学院第一附属医院 1. 神经外科, 2. 老干一科, 新疆 石河子 832008)

摘要:目的 探讨垂体腺瘤组织中多巴胺转运体(DAT)和多巴胺 D₂受体(D₂R)的表达变化及其意义。**方法** 选取 179 例手术治疗的垂体腺瘤患者,根据术前内分泌激素检查和术后病理学检查结果,将患者分为泌乳腺瘤(PRL)45 例、生长激素腺瘤(GH)43 例、促肾上腺皮质激素腺瘤(ACTH)32 例及无功能垂体腺瘤(NFPA)59 例,免疫组织化学法检测垂体腺瘤组织和瘤旁正常组织中 DAT、D₂R 的表达,分析 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中表达的相关性。**结果** PRL、GH 及 ACTH 组织中 D₂R、DAT 表达高于 NFPA 和瘤旁正常组织,PRL 和 GH 组织中 D₂R、DAT 表达高于 ACTH 组织($P < 0.05$);D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中的表达与性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤质地、KNOSP 分级、是否侵袭及是否复发无关($P > 0.05$);Spearman 相关分析显示,D₂R 在垂体腺瘤组织中的表达与 DAT 呈正相关($r = 0.571, P = 0.000$)。**结论** D₂R、DAT 在 PRL 和 GH 腺瘤组织中呈高表达,而在 ACTH 和 NFPA 腺瘤中组织呈低表达,提示多巴胺代谢紊乱可能参与不同病理学类型垂体腺瘤的发生。

关键词: 垂体腺瘤;多巴胺转运体;多巴胺 D₂受体;表达

中图分类号: R736.4

文献标识码: A

Expressions and significance of DAT and D2R in pituitary adenoma tissues

Zhi-wen Ren¹, Yan Xie², Dong Zhao¹, Qi Liu¹, Yang Wang¹, Jian Xu¹, Ye-zhong Wang¹
(1. Department of Neurosurgery, 2. Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832008, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of expressions of dopamine transporter (DAT) and dopamine D₂ receptor (D₂R) in pituitary adenomas and their significance. **Methods** In this study, 179 cases of patients with pituitary adenomas undergoing surgical treatment were selected. According to the results of preoperative hormone examination and postoperative pathologic test, the patients were divided into prolactinoma (PRL, $n = 45$), growth hormone adenoma (GH, $n = 43$), adrenocorticotrophic adenoma (ACTH, $n = 32$) and nonfunctioning pituitary adenoma (NFPA, $n = 59$) groups. The expressions of DAT and D₂R in the pituitary adenomas and the adjacent normal tissues were detected using immunohistochemistry. The correlations between the expressions of D₂R and DAT in the pituitary adenoma tissues were analyzed by Spearman correlation analysis. **Results** Qualitative and semi-quantitative analysis results showed that, the expressions of D₂R and DAT in the PRL, GH and ACTH tissues were higher than those in the NFPA and adjacent normal tissues, and the expressions of D₂R and DAT in the PRL and GH tissues were higher than those in the ACTH tissues, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The expressions of D₂R and DAT in the pituitary adenoma tissues were not related with gender, age, tumor diameter, tumor texture, KNOSP classification, tumor invasion or recurrence ($P > 0.05$). Spearman correlation analysis showed that the expression of D₂R in the pituitary adenoma tissues was positively correlated with the expression of DAT ($r = 0.571, P = 0.000$). **Conclusions** D₂R and DAT are highly expressed in PRL and GH adenoma tissues, but lowly expressed in ACTH and NFPA tissues. It suggested that dopamine metabolic disorders may be involved in the

收稿日期:2016-12-21

[通信作者] 王业忠, E-mail: 3081217747@qq.com; Tel: 13899526062

pathogenesis of different types of pituitary adenomas.

Keywords: pituitary adenoma; dopamine transporter; dopamine D₂ receptor; expression

近年来垂体腺瘤发病率呈升高趋势^[1],常影响神经及内分泌功能,部分甚至具有恶性肿瘤特质而侵袭鞍区^[2]。多巴胺受体激动剂作为一线药物常用于泌乳腺瘤(prolactinoma, PRL)的治疗,但对其他病理类型垂体腺瘤疗效有限^[3],多巴胺 D₂受体(dopamine D₂ receptor, D₂R)作为多巴胺直接作用位点,与多巴胺受体激动剂疗效密切相关^[4]。多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)在多巴胺重新摄取及维持脑内多巴胺平衡中发挥重要作用^[5]。本研究拟分析 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中的表达及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2012 年 2 月 -2015 年 3 月新疆石河子大学医学院第一附属医院神经外科行手术治疗的垂体腺瘤患者 179 例,其中,男性 94 例,女性 85 例;平均年龄(45.9 ± 11.8)岁。所有患者术前行鞍区影像学检查明确鞍区占位病变,排除垂体腺瘤囊变或卒中、混合性垂体腺瘤,以及标本组织较小或血块较多无法完成检查者。根据术前内分泌激素检查和术后病理学检查结果,将患者分为功能性垂体腺瘤:PRL 45 例、生长激素腺瘤(growth hormone adenoma, GH)43 例、促肾上腺皮质激素腺瘤(adrenocorticotrophic hormone adenoma, ACTH)32 例,以及无功能垂体腺瘤(no functional pituitary adenoma, NFPA)59 例。所有研究对象术中留取垂体腺瘤及瘤旁正常组织标本,甲醛固定,石蜡包埋,切片,保存于 4℃ 条件备检。本研究通过医院伦理委员会批准,所有患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂 D₂R 和 DAT 单克隆抗体购自上海信裕生物科技有限公司,免疫组织化学试剂盒和 DAB 染色剂均购自福州迈新生物公司。

1.2.2 免疫组织化学法染色 取石蜡组织标本切片,脱落后,用梯度乙醇水化,用柠檬酸盐抗原修复液进行抗原修复,加入过氧化物酶阻断液。分别加入 D₂R、DAT 单克隆抗体(稀释比例 1:200),4℃ 过夜孵育。PBS 洗涤 3 次,加入通用型二抗羊抗兔 IgG,室温下孵育 20 min, PBS 洗涤 3 次, DAB 染色,苏木素复染、返蓝、脱水、封片。以 PBS 替代一抗作为空白对照。

1.2.3 结果判定 由 2 位副主任以上职称的病理科医师采用双盲法进行阅片,每张切片随机取 5 个高倍视野,根据染色强度和阳性细胞百分比进行综合判定:①染色强度:无染色 0 分,淡黄色 1 分,棕黄色 2 分,深棕褐色 3 分;②阳性细胞百分比:<10%为 1 分,11%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分;>75%为 4 分;③两部分相乘,≥3 分为阳性表达,<3 分为阴性表达。利用日本 Nikon 公司 ECLIPSE 80i 图像分析系统对免疫组织化学法染色切片进行半定量分析,在同一条件下对切片进行扫描采集,每张切片随机取 5 个高倍视野,测定图像吸光度(A 值),以 5 个视野的均值作为该例的测量结果。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD-*t* 检验,计数资料以率表示,用 χ^2 检验,两两比较校正检验水准,相关分析用 Spearman 法, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

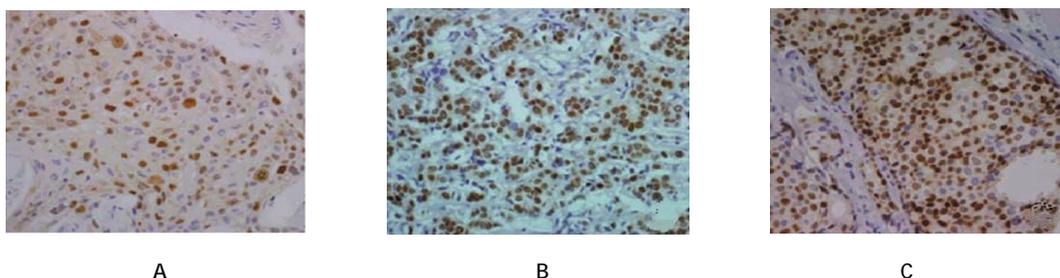
2 结果

2.1 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中的表达

免疫组织化学法结果显示, D₂R 主要集中在细胞核,染色呈黄褐色,在瘤旁正常组织中,可见少量阳性细胞,而在垂体腺瘤组织中,可见大量的细胞核被染成黄褐色,呈强阳性细胞(见图 1)。DAT 主要集中在细胞质中,染色呈黄褐色,在瘤旁正常组织中表达,可见少量细胞核周围细胞质呈棕黄色染色,而在垂体腺瘤组织中,可见大量的细胞质呈黄褐色染色(见图 2)。

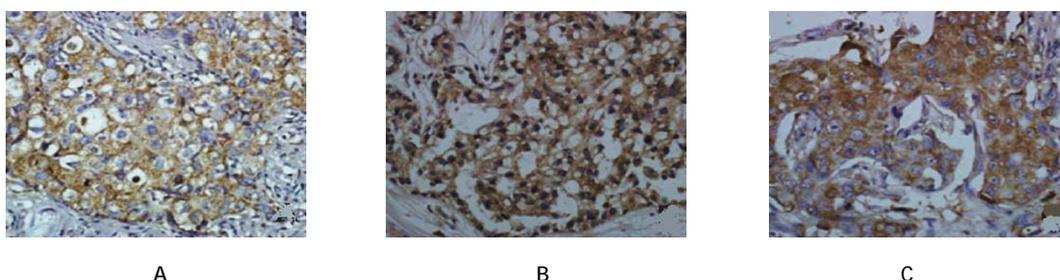
定性分析结果显示, PRL、GH、ACTH、NFPA 及瘤旁正常组织中 D₂R 阳性表达率比较,经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$), PRL、GH 及 ACTH 组织中 D₂R 表达高于 NFPA 和瘤旁正常组织, PRL 和 GH 组织中 D₂R 表达高于 ACTH 组织; PRL、GH、ACTH、NFPA 及瘤旁正常组织中 DAT 阳性表达率比较,经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$), PRL、GH 及 ACTH 组织中 DAT 表达高于 NFPA 和瘤旁正常组织, PRL 和 GH 组织中 DAT 表达高于 ACTH 组织。见表 1。

半定量分析结果显示, PRL、GH、ACTH、NFPA



A: D₂R 在瘤旁正常组织中表达,可见少量细胞核呈黄褐色染色;B: D₂R 在垂体腺瘤组织中呈低表达,可见部分细胞核呈黄褐色染色;C: D₂R 在垂体腺瘤组织中呈高表达,可见大量细胞核呈黄褐色染色

图 1 D₂R 在垂体腺瘤组织中的表达 (免疫组织化学法 × 400)



A: DAT 在瘤旁正常组织中表达,可见少量细胞核周围细胞质呈棕黄色染色;B: DAT 在垂体腺瘤组织中呈低表达,可见部分细胞核周围细胞质呈黄褐色染色;C: DAT 在垂体腺瘤组织中呈高表达,可见大量细胞核周围细胞质呈棕黄色染色

图 2 DAT 在垂体腺瘤组织中的表达 (免疫组织化学法 × 400)

及瘤旁正常组织中 D₂R、DAT 吸光度 A 值比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),两两比较,经 LSD-*t* 检验,PRL、GH 及 ACTH 组织中 D₂R、DAT 表达高于 NFPA 和瘤旁正常组织,PRL 和 GH 组织

中 D₂R、DAT 表达高于 ACTH 组织。见表 2。

2.2 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中的表达与临床病理特征的关系

D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中的表达与性别、年

表 1 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中的表达比较

组别	例数	D ₂ R 例(%)		DAT 例(%)	
		阴性	阳性	阴性	阳性
PRL	45	4(8.9)	41(91.1) ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	6(13.3)	39(86.7) ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
GH	43	6(14.0)	37(86.0) ¹⁾²⁾³⁾	8(18.6)	35(81.4) ¹⁾²⁾³⁾
ACTH	32	13(40.6)	19(59.4) ¹⁾²⁾	15(46.9)	17(53.1) ¹⁾²⁾
NFPA	59	41(69.5)	18(30.5)	46(78.0)	13(22.0)
瘤旁正常组织	179	132(73.7)	47(26.3)	148(82.7)	31(17.3)
χ ² 值		100.906		121.948	
P 值		0.000		0.000	

注:1)与瘤旁正常组织比较, $P < 0.05$;2)与 NFPA 比较, $P < 0.05$;3)与 ACTH 比较, $P < 0.05$;4)与 GH 比较, $P < 0.05$

表 2 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中表达的 A 值比较

病理类型	例数	D ₂ R/(\bar{x} ± s)	DAT/(\bar{x} ± s)
PRL	45	0.51 ± 0.10 ¹⁾²⁾³⁾	0.65 ± 0.12 ¹⁾²⁾³⁾
GH	43	0.48 ± 0.08 ¹⁾²⁾	0.63 ± 0.10 ¹⁾²⁾
ACTH	32	0.35 ± 0.06 ¹⁾	0.43 ± 0.07 ¹⁾
NFPA	59	0.18 ± 0.07	0.22 ± 0.05
瘤旁正常组织	179	0.15 ± 0.05	0.20 ± 0.04
F 值		138.641	192.253
P 值		0.000	0.000

注:1)与瘤旁正常组织比较, $P < 0.05$;2)与 NFPA 比较, $P < 0.05$;3)与 ACTH 比较, $P < 0.05$

表 3 临床病理特征与 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中表达的关系

临床病理特征	例数	D ₂ R 例(%)		χ ² 值	P 值	DAT 例(%)		χ ² 值	P 值
		阴性	阳性			阴性	阳性		
性别									
男	94	33(35.1)	61(64.9)	0.036	0.849	35(36.2)	59(63.8)	1.770	0.183
女	85	31(36.5)	54(63.5)			40(47.1)	45(52.9)		

续表 3

临床病理特征	例数	D ₂ R 例(%)		χ^2 值	P 值	DAT 例(%)		χ^2 值	P 值
		阴性	阳性			阴性	阳性		
年龄									
>45 岁	111	38(34.2)	73(65.8)	0.294	0.588	45(40.5)	66(59.5)	0.222	0.638
≤45 岁	68	26(38.2)	42(61.8)			30(44.1)	38(55.9)		
肿瘤直径									
≥20 mm	102	33(32.4)	69(67.6)	1.194	0.274	38(37.3)	64(62.7)	2.101	0.147
<20 mm	77	31(40.3)	46(59.7)			37(48.1)	40(51.9)		
肿瘤质地									
软	138	51(37.0)	87(63.0)	0.379	0.538	59(42.8)	79(57.2)	0.181	0.671
硬	41	13(31.7)	28(68.3)			16(39.0)	25(61.0)		
KNOSP 分级									
I、II	51	18(35.3)	33(64.7)	0.007	0.935	20(39.2)	31(60.8)	0.211	0.646
III、IV	128	46(35.9)	82(64.1)			55(43.0)	73(57.0)		
侵袭									
是	62	20(32.3)	42(67.7)	0.505	0.477	25(40.3)	37(59.7)	0.097	0.756
否	117	44(37.6)	73(62.4)			50(42.7)	67(57.3)		
复发									
是	17	7(41.2)	10(58.8)	0.240	0.624	8(47.1)	9(52.9)	0.205	0.650
否	162	57(35.2)	105(64.8)			67(41.4)	95(58.6)		

龄、肿瘤直径、肿瘤质地、KNOSP 分级、是否侵袭及是否复发无关($P>0.05$)。见表 3。

2.3 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中表达的相关性

Spearman 相关分析显示,D₂R 在垂体腺瘤组织中的表达与 DAT 呈正相关($r=0.571, P=0.000$)。见表 4。

表 4 D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中表达的相关性 例

D ₂ R	DAT		r 值	P 值
	阳性	阴性		
阳性	51	13	0.571	0.000
阴性	24	91		

3 讨论

垂体腺瘤作为颅脑常见良性肿瘤类型,其危害不容小视,可导致机体内分泌功能发生改变,而引起一系列病理改变,破坏人体内环境的稳定,严重影响人体正常生理功能^[6]。临床上在对垂体腺瘤进行药物治疗时发现^[7],不同病理学类型的垂体腺瘤对不同药物治疗敏感性不同。多巴胺受体激动剂(以溴隐亭为代表)对 PRL 腺瘤治疗有效,可使 76%~93%患者的血清 PRL 水平恢复正常,并使瘤体变小^[8],而在治疗

其他病理类型垂体腺瘤时却作用有限,只对部分患者有效。有研究指出,多巴胺受体激动剂在治疗垂体腺瘤时的疗效差异可能与不同垂体腺瘤中 D₂R 有关^[9]。DAT 在多巴胺信号传导中发挥重要作用。研究表明,D₂R 和 DAT 在多种神经系统疾病中出现表达异常^[9-10]。

本研究结果显示,PRL、GH 及 ACTH 组织中 D₂R、DAT 阳性表达率高于 NFPA 和瘤旁组织,PRL 和 GH 组织中 D₂R、DAT 阳性表达率高于 ACTH,说明在不同病理学类型垂体腺瘤中,D₂R、DAT 出现表达差异,而这也正解释不同病理类型垂体腺瘤对多巴胺受体激动剂敏感性不同,垂体腺瘤组织中 D₂R 越多,多巴胺受体激动剂作用靶点越多,从而使其更好地发挥效果,同时,DAT 在调控多巴胺稳态中发挥重要作用^[11],高表达的 DAT 可能导致多巴胺稳态被打乱。本研究显示,D₂R、DAT 在垂体腺瘤组织中的表达与性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤质地、KNOSP 分级、是否侵袭及是否复发无关,说明垂体腺瘤组织中 D₂R、DAT 表达并不受一般临床特征的影响,只与病理学分型有关。Spearman 相关分析显示,D₂R 在垂体腺瘤组织中表达与 DAT 呈正相关,过表达的 D₂R 可能与 DAT 相互作用而使多巴胺作用减弱,使多巴胺

对 PRL 细胞分泌、增殖的抑制作用减缩^[12],具体作用机制尚待进一步研究明确。

综上所述,D₂R、DAT 在不同病理学类型垂体腺瘤组织中表达不同,多巴胺代谢紊乱可能参与不同病理学类型垂体腺瘤的发生,但具体机制待进一步研究明确。

参 考 文 献:

- [1] HALUPCZOK J, KLUBA-SZYSZKA A, BIDZI SKA-SPEICHERT B, et al. Ovarian hyperstimulation caused by gonadotroph pituitary adenoma-review[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2015, 24(4): 695-703.
- [2] ZHOU P, YIN S, JIANG S, et al. Malignant intrasellar meningioma presenting as an invasive pituitary macroadenoma: a rare case report and literature review [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11 (2): 1073-1076.
- [3] 韩冲,潘源,丁学华,等.重视泌乳素腺瘤的药物治疗[J].*中华内分泌外科杂志*, 2014, 8(3): 240-242.
- [4] VIEIRA NETO L, WILDEMBERG L E, MORAES A B, et al. Dopamine receptor subtype 2 expression profile in nonfunctioning pituitary adenomas and in vivo response to cabergoline therapy[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2015, 82(5): 739-746.
- [5] 吴恒乾,白洁.多巴胺转运体功能及其与神经精神疾病的相关研究[J].*生理科学进展*, 2015, 46(4): 317-320.
- [6] DIRI H, OZASLAN E, KURTISOY A, et al. Prognostic factors obtained from long-term follow-up of pituitary adenomas and other sellar tumors[J]. *Turk Neurosurg*, 2014, 24(5): 679-687.
- [7] 王彬彬,刘宁.垂体腺瘤药物治疗的研究进展[J].*中国肿瘤外科杂志*, 2013, 5(1): 19-22.
- [8] 吴哲褒,张亚卓,孙异临,等.溴隐亭治疗垂体腺瘤后超微结构改变和相关基因表达的研究[J].*中华神经外科杂志*, 2011, 27(1): 14-17.
- [9] JÖRG M, MAY L T, MAK F S, et al. Synthesis and pharmacological evaluation of dual acting ligands targeting the adenosine A2A and dopamine D₂ receptors for the potential treatment of parkinson's disease[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(2): 718-738.
- [10] 丁凯景,康传媛,刘瑞湘,等.哌醋甲酯治疗注意缺陷多动障碍前后 DRD4 和 DAT1 基因 mRNA 表达的研究[J].*中华行为医学与脑科学杂志*, 2015, 24(10): 896-899.
- [11] CHENG M H, BAHAR I. Molecular mechanism of dopamine transport by human dopamine transporter[J]. *Structure*, 2015, 23(11): 2171-2181.
- [12] 朱孔江,杨辉.雌激素受体影响泌乳素瘤发生的作用途径[J].*局解手术学杂志*, 2014, 23(1): 84-86.

(童颖丹 编辑)